

描述: 该制品为全体系冻干微球制品, 内含恒温扩增所用的反应缓冲液、 Mg^{2+} 、dNTP、Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶等, 其不包含任何染料, 使用时只需要加入引物、模板即可进行核酸恒温扩增。该制品为冻干微球制品, 采用专用的冻干工艺制备而成, 性质稳定, 可在室温 (25°C) 稳定储存 6 个月, 无需冷链运输。

Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶具有依赖于 RNA 模板的聚合酶活性 (逆转录), 还具有依赖于 DNA 的聚合酶活性, 因此无论 DNA 或 RNA 样本均可使用该制品进行恒温扩增。该制品是进行 LAMP 及 RT-LAMP 扩增反应的绝佳试剂。优化的反应体系, 确保快速的完成检测试剂的反应体系建立。

本品为 Bst 4.0 IsoAmp 试剂的基础版本, 不包含任何显色染料, 可灵活的用于其它恒温检测, 如试纸条、免疫层析、微流控、芯片等领域。除此外, 本品还可搭配 OG 橙绿变色反应管 (货号: A3821), 进行橙绿变色可视化检测。

| 货号 | 名称 | 规格 |
|----------|-------------------------------|-------|
| A3828-02 | Bst4.0 Basic Lyophilized Bead | 100 个 |

储存与运输: (1) 室温保存 25°C 保存 6 个月; 2-8°C 保存 2 年; -20°C 保存 5 年。(2) 该制品室温运输, 无需冷链。

(3) 打开盖后, 未使用完毕的制品, 可用封口膜或电工胶带封口, 防止返潮导致制品性能下降。(4) 制品置于 0.2ml EP 管后, 可真空包装, 以保持较好的稳定性。

使用冻干微球进行全扩增体系用品的制备方法: 将优化的扩增引物分装于 0.2ml EP 管底部, 于 70-80°C 条件烘干 1-2h。烘干后的 0.2ml EP 管已经含有干燥的扩增引物, 再加入一粒冻干微球即可制备成全扩增体系干燥品, 该干燥品无需冷链运输, 可长期保存。

反应体系说明: 每一个冻干微球为按照 25 μ l 反应体系建立, 在使用时只需要加入 ddH₂O、模板和引物即可进行反应。

使用实例 (以 LAMP 橙绿变色扩增为例):

1. 搭配 OG 橙绿变色管(A3821)进行橙绿变色反应, 橙绿变色染料 (OG Dye) 以冻干的形式预加在 8 联管盖上。LAMP 反应完毕后, 将 0.2ml EP 管颠倒溶解 OG 染料后。LAMP 的反应产物将与 OG 染料形成绿色肉眼可见变色反应 (阳性), 而未扩增的 EP 管为深橙色 (阴性)。

2. 配制荧光 LAMP 反应体系

在 OG 染料管 (0.2ml EP) 反应管中加入下述试剂

| | |
|-------------------------------|-----------------|
| Bst4.0 Basic Lyophilized Bead | 1 粒 |
| *10xLAMP Primer Mix | 2.5 μ l |
| 模板 DNA/RNA | X μ l |
| ddH ₂ O | upto 25 μ l |

*10xLAMP Primer Mix 浓度: FIP/BIP 分别为 16 μ M、LoopF/B 分别为 8 μ M、F3/B3 分别为 2 μ M。

注意: 全部试剂加入完毕后, 轻弹 EP 管底部后, 再盖上 OG 橙绿变色管 (盖上管盖后务必不能再剧烈混合与倒置, 以防止将管盖上的 OG 染料溶解, OG 染料一旦混入反应液中将会终止 LAMP 反应)。

3. 反应体系配好后, 置于 60~68°C (首次实验采用 65°C) 进行反应 15~30min。(扩增良好的引物组合, 通常 20min 即可变色, 一般不超过 30min, 首次实验设置 15、20、25、30min)。

4. 观察结果: 观察结果时, 尽可能不要与配制反应空间共用, 以防止污染操作台。将反应 EP 管倒置, 用手腕轻甩, 反应液浸泡 EP 管盖上的 OG 染料, 静置 30s。再将 EP 反应管正置, 并轻甩反应液至 EP 管底部, 此时扩增样品将变为鲜艳肉眼可见绿色, 而阴性未发生扩增的管将为深橙色。

注意事项:

关于矿物油的使用, 在配制完 LAMP 反应体系后, 可加入一滴矿物油覆盖于反应液上部, 以减少气溶胶的污染。